

**Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa**

**Mestrado Integrado em Medicina**

**2015/2016**



UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



FACULDADE DE  
**MEDICINA**  
LISBOA



## **Tricoleucémia:**

**Caracterização clínica de uma série  
unicêntrica num período de 12 anos**

**Orientador: Dr<sup>a</sup> Albertina Nunes**

**Trabalho realizado por Marta Delgado da Torre, nº12796**

**Serviço de Hematologia do Instituto Português de Oncologia de  
Lisboa - Prof. Dr<sup>a</sup>. Maria Gomes da Silva**

**Clínica Universitária de Hematologia – Prof. Dr. Forjaz de Lacerda**

## RESUMO

A Tricoleucemia (HCL) é uma neoplasia linfoproliferativa crónica de células B. É uma doença rara, mais frequente no sexo masculino e com uma idade média de apresentação de 50 anos. A apresentação clínica é caracterizada por citopénias, esplenomegália e sintomas inespecíficos como astenia e perda ponderal. O *gold standard* diagnóstico é a imunofenotipagem de medula óssea por citometria de fluxo, com identificação de uma população neoplásica que habitualmente expressa os antígenos CD11c, CD25 e CD103. Estudos recentes estabeleceram que a mutação BRAFV600E está presente na vasta maioria dos doentes com esta patologia. A terapêutica mais frequentemente utilizada são os análogos das purinas, fármacos que apresentam taxas de resposta completa (RC) elevadas. Fármacos mais recentes incluem inibidores da BRAF e imunotoxinas recombinantes. A sobrevivência da HCL é geralmente prolongada.

Neste trabalho foram analisados retrospectivamente todos os casos de HCL com início de seguimento no Instituto Português de Oncologia de Lisboa entre 2003 e 2015. Da análise desta série conclui-se que é epidemiologicamente semelhante ao descrito na literatura, com uma apresentação clínica e fenótipo medular característicos e uma excelente resposta à terapêutica e longa sobrevivência.

## ABSTRACT

The Hairy Cell Leukemia is a chronic B cell lymphoproliferative neoplasia. It is a rare disease, more frequent in the male sex and with an average age at presentation of 50 years. The clinical presentation is characterized by cytopenia, splenomegaly and unspecific symptoms as weakness and weight loss. The gold standard for the diagnosis of HCL is the bone marrow immunophenotyping by flow cytometry. This exam identifies a neoplastic population that usually expresses the antigens CD11c, CD25 and CD103. Recent studies have established that the BRAFV600E mutation is present in the vast majority of the patients with HCL. The pharmacological therapy widely used in this disease is the purine analogues, agents with high percentages of complete responses. Recent therapies include BRAF inhibitors and recombinant immunotoxins. The overall survival of HCL is usually high.

In this paper all cases of HCL with a follow-up in IPO Lisbon between 2003 and 2015 were retrospectively analyzed. From this analysis we concluded that this population has a similar epidemiology when in comparison with the data found in scientific

papers, with a classical clinical presentation and phenotype. The therapy response rates are excellent and the overall survival is long.

## INTRODUÇÃO TEÓRICA

### DEFINIÇÃO

A Tricoleucémia é uma neoplasia linfoproliferativa crónica de células B (Robak T, 2015) (Jones G, 2011). Esta doença, pouco frequente, foi descrita pela primeira vez como entidade com características fisiopatológicas e clínicas próprias em 1958 por Bouroncle e colaboradores. Nesta altura denominaram-na de Reticuloendoteliose leucémica (Bouroncle BA, 1958), sendo que o termo tricoleucemia (Hairy Cell Leukemia, HCL) surgiu apenas em 1966, por proposta de Schreck e Donnelly, com base no aspecto das projecções citoplasmáticas das células neoplásicas observadas por microscopia de contraste de fase (Schreck R, 1966).

### EPIDEMIOLOGIA

A HCL corresponde a 2-3% de todas as leucemias do adulto (Robak T, 2015) (Jhatakia SA, 2013) (Jones G, 2011), sendo 6-10 vezes mais rara que a Leucemia Linfocítica Crónica (Jones G, 2011). São diagnosticados cerca de 1000 novos casos por ano nos Estados Unidos da América (Morton LM, 2006) e 1600 na Europa (Robak T, 2015). Está descrito um predomínio de incidência na raça caucasiana e no sexo masculino (num rácio de 4:1 em relação à população feminina); a idade média de apresentação varia entre 50 e 52 anos (Robak T, 2015) (Jhatakia SA, 2013) (Allsup DJ, 2002) (Sarvaria A, 2015). Apesar disso, *Dores e colaboradores.*, num estudo de *cohort* de 2008 publicado no *British Journal of Haematology*, identificaram duas subpopulações de HCL com base na idade ao diagnóstico – apresentação precoce e tardia. De facto, este estudo verificou um padrão de incidência bimodal, com um pico por volta dos 40 anos e outro por volta dos 80. Para além disso, a distribuição revela pequenas diferenças no que se refere ao sexo: no masculino existe um predomínio da apresentação precoce, já no feminino constata-se uma distribuição mais equilibrada entre os dois tipos de apresentação (Dores GM, 2008).

### ETIOLOGIA

A etiologia exacta da HCL é desconhecida, existindo, no entanto, estudos que sugerem diversas associações possíveis. O predomínio no sexo masculino levanta a suspeita de que factores de exposição ocupacional possam contribuir para a etiologia da doença. Para além do mais, a distribuição bimodal relacionada com a idade de

apresentação desta patologia pode reflectir mecanismos fisiopatológicos e causais, e factores de risco dependentes da idade (Dores GM, 2008). Concretamente, estudos de caso-controlo corroboram a associação desta patologia à exposição a solventes, herbicidas, fungicidas, agentes de impregnação, fumo de escape e animais de quinta (Nordstroem M, 1998); um estudo francês demonstrou também associação entre HCL e insecticidas e herbicidas (Orsi L, 2009); *Nordstroem e colaboradores.* referem ainda uma “clara associação negativa entre HCL e tabaco, em não agricultores” (Nordstroem M, 1998). Um herbicida em particular descrito como relacionado com o desenvolvimento de HCL é o Agente Laranja utilizado durante a Guerra do Vietnam (Robak T, 2015).

#### CÉLULA DE ORIGEM DA HCL

A HCL faz parte das neoplasias de células B maduras (Robak T, 2015) (Jones G, 2011). No entanto, esta informação imunofenotípica não permite definir exactamente, de entre as etapas normais do desenvolvimento deste tipo de linfócitos, qual a célula de origem da HCL.

Em 2011, *Tiacci e colaboradores.* demonstraram a presença de uma mutação do gene BRAF (BRAV600E) em praticamente 100% dos doentes com HCL (Tiacci E T. V., 2011); note-se que esta mutação foi encontrada mais especificamente em células estaminais hematopoiéticas (Abdel-Wahab O, 2014). As células estaminais mutadas, além de fenotipicamente normais, não apresentavam outras mutações frequentemente presentes em células leucémicas, sugerindo que sejam estas as células pré-leucémicas de origem da HCL (Bahcall O, 2014). Para melhor perceber este aspecto, *Chung S e colaboradores.* transplantaram células estaminais com a mutação BRAV600E em ratinhos imunodeprimidos, o que resultou no desenvolvimento de uma patologia hematopoiética letal com características semelhantes à HCL clássica. Pelo contrário, restringir a expressão de BRAV600E às células B maduras de ratinhos não resultou em doença (Chung SS, 2014). Este estudo veio então corroborar a premissa de que as células estaminais hematopoiéticas são as células de origem da HCL (Chung SS, 2014) e de que a mutação BRAV600E é “a lesão genética por detrás da tricoleucémia” (Tiacci E P. J., 2015).

Apesar do descrito anteriormente, existem casos de HCL que não apresentam a mutação BRAV600E. A segunda mutação mais comum na HCL é a mutação no

gene CDKN1B; este codifica uma proteína (p27) com funções na regulação do ciclo celular e na supressão tumoral (Dietrich S H. J., 2015).

## CLÍNICA

Sintomas não específicos, como astenia, perda de peso e dispneia, representam cerca de 75% dos motivos da procura de apoio médico. Podem também estar presentes sintomas relacionados com infecção (30%), hemorragia (20%) ou esplenomegália (10%) (Allsup DJ, 2002). No entanto, uma percentagem importante dos doentes (25%) apresenta-se assintomática, sendo a hipótese diagnóstica levantada pela presença de citopénias em análises de rotina (Sarvaria A, 2015) (Allsup DJ, 2002).

Com efeito, a maioria dos doentes apresenta algum grau de citopénia, sendo que, em cerca de 40% dos casos, se observa mesmo uma pancitopénia. Relativamente à linhagem eritrocitária, 75 a 84% dos doentes apresentam valores de hemoglobina abaixo dos 12g/dl, sendo que destes, cerca de 35% possui valores abaixo dos 8.5 g/dl. No que respeita a trombocitopénia, 57 a 79% dos doentes apresentam plaquetas abaixo das 100000/ $\mu$ l, 30-33% abaixo das 50000/ $\mu$ l e 10% abaixo das 20000/ $\mu$ l; tal, deve-se, em grande parte, ao sequestro hepático pela esplenomegália (Kraut, 2003). A contagem de glóbulos brancos é a mais variável, podendo apresentar-se, num número ainda considerável de doentes, dentro ou acima dos valores de referência (Allsup DJ, 2002). 60% dos doentes vão apresentar leucopénia, sendo que destes, 37% têm neutropénia grau 4 (menos de 500/ $\mu$ l) (Kraut, 2003). *Allsup et al.* referem valores semelhantes, com neutropénia em >90% dos doentes, e neutropénia grave em 37% destes (Allsup DJ, 2002). Este mesmo artigo refere ainda que um terço dos casos, apresenta uma hipergamaglobulinémia policlonal (Allsup DJ, 2002). Finalmente, em 90% dos doentes verifica-se monocitopénia, sendo este um achado muito comum na HCL clássica (Jones G, 2011).

Ao nível do exame objectivo, 60-70% dos doentes apresentam esplenomegália; apesar de a hepatomegália ser menos frequente (40-50%), o envolvimento deste órgão a nível histológico é comum, sem, no entanto, se verificarem repercussões significativas ao nível da função hepática e transaminases (Jones G, 2011) (Kraut, 2003).

Apesar de ser pouco frequente encontrar adenopatias na apresentação da HCL, estas podem ocorrer em 15% dos doentes durante a história natural da doença, sendo predominantemente infra-diafragmáticas (Allsup DJ, 2002).

Ainda que historicamente os portadores de HCL sejam descritos como tendo uma incidência elevada de infecções, muitas vezes causadas por microrganismos pouco habituais, estas têm sido cada vez menos frequentes desde a introdução de interferão alfa e análogos das purinas na terapêutica. No entanto, a ocorrência de infecções bacterianas numa fase pós terapêutica é ainda assinalável. Em 50% das infecções, os microrganismos descritos são a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Escherichia coli* (Kraut, 2003). Outros microrganismos também envolvidos são ainda a *Legionella*, *Listeria*, *Toxoplasma*, *Pneumocystis*, *Aspergillus* e, com grande destaque, *Micobacterium* (Allsup DJ, 2002).

São frequentes as manifestações autoimunes relacionadas com a HCL; delas, a mais comum é uma síndrome vasculítica sistémica de etiologia desconhecida, manifestada por febre e artralgia/artrite, com factor reumatóide positivo e anticorpos antinucleares (Allsup DJ, 2002). Apesar disso, os doentes com HCL podem apresentar-se com achados mais inespecíficos como poliartrite, *eritema nodosum*, *rash* cutâneo ou infiltrados pulmonares (Kraut, 2003).

A HCL pode estar também associada a envolvimento ósseo, com lesões líticas predominantemente a nível do esqueleto axial e dos ossos longos proximais (Kraut, 2003) (Allsup DJ, 2002).

Finalmente, são ainda descritos casos de envolvimento seroso com ascite ou derrame pleural (Kraut, 2003).

## DIAGNÓSTICO

De acordo com as Guidelines de 2015 da *European School of Medical Oncology*, (ESMO), o diagnóstico de HCL baseia-se na avaliação da morfologia do esfregaço de sangue periférico; na análise fenotípica de sangue periférico por citometria de fluxo; na biópsia osteomedular, que deve incluir estudo imunohistoquímico; e na pesquisa da mutação BRAF. Apesar disto, na maioria dos casos a avaliação morfológica de sangue periférico e a imunofenotipagem são suficientes para estabelecer o diagnóstico de HCL (Robak T, 2015).

As alterações do sangue periférico podem variar, desde uma linfocitose moderada composta por tricoleucócitos (os quais podem ser morfológicamente identificados) até uma monocitopenia ou neutropenia com raras ou nenhuma células neoplásicas (Bethel KJ, 2003). Mesmo com contagens normais, 90% dos doentes apresentam tricoleucócitos à periferia (Sarvaria A, 2015).

Assim, é necessário caracterizar um pouco melhor este tipo de células. Um tricoleucócito é uma célula de aspecto uniforme, de tamanho pequeno a intermédio, duas vezes maior que um linfócito maduro. Apresenta um núcleo ovóide ou ocasionalmente indentado, assemelhando-se ao formato de um rim. A cromatina é finamente granulosa e homogénea, ao contrário de outras neoplasias de células B; o citoplasma apresenta-se azul claro na coloração de *Wright* e cada célula contém numerosas mitocôndrias e ribossomas. Finalmente, os tricoleucócitos apresentam projecções citoplasmáticas, que lhes conferem uma aparência semelhante a cabelos (Bethel KJ, 2003) (Jhatakia SA, 2013) (Robak T, 2015) (Jones G, 2011), o que justifica o seu nome.

Sendo que praticamente todos os doentes com HCL apresentam envolvimento medular, enfatiza-se a importância da análise morfológica imunohistoquímica da medula óssea (Jhatakia SA, 2013). Dentro dos achados característicos de HCL, a fibrose medular é frequente, o que tem implicações na eficácia da técnica de biópsia. De facto, devido à fibrose, a aspiração é bem sucedida em apenas 10% dos doentes (Jones G, 2011), sendo que nos restantes obtém-se o denominado *dry-tap*. A avaliação medular é, assim, geralmente feita por biópsia osteomedular (Robak T, 2015) (Jones G, 2011). Morfologicamente, é possível observar graus e padrões de infiltração variáveis, desde uma infiltração intersticial ligeira à ocupação difusa dos espaços medulares, e os linfócitos neoplásicos estão rodeados por um halo claro devido ao seu citoplasma abundante, o que conduz ao padrão característico em “ovo estrelado” (Bethel KJ, 2003) (Jhatakia SA, 2013).

Uma das técnicas que se tem demonstrado mais vantajosa no diagnóstico de HCL é a análise imunofenotípica por citometria de fluxo das células neoplásicas presentes na medula e/ou sangue periférico. A utilização de anticorpos monoclonais anti células B, CD19, CD20 e CD22 permite enquadrar o quadro clínico numa neoplasia B, enquanto os anticorpos mais específicos de HCL - CD11c, CD25, CD103, CD123 – permitem um diagnóstico definitivo (Robak T, 2015) (Jones G, 2011) (Sarvaria A, 2015) (Bethel KJ, 2003). De facto, o *Royal Marsden Group* desenvolveu um sistema de pontuação usando os marcadores CD11c, CD25, CD103 e HC2 (antigénio envolvido na diferenciação celular na HCL) e verificou que 98% dos casos avaliados apresentavam um score de 3 ou 4 (Matutes E M. R.-A., 1994) (Jhatakia SA, 2013). A expressão de CD200 é também muito frequente, e pode ser útil nos casos de difícil diagnóstico (Robak T, 2015). Para além destes marcadores, existem algumas



variações, sendo a mais comum a expressão de CD10, em 25% dos casos, seguida da expressão de CD5, em menos de 5% dos casos (Bethel KJ, 2003).

Com o desenvolvimento de citómetros de fluxo multiparamétricos, tornou-se possível a caracterização de populações celulares pequenas (menores que 1%), fazendo deste o método de excelência no que toca ao diagnóstico definitivo de HCL (Bethel KJ, 2003) (Jhatakia SA, 2013).

Tal como noutras patologias, as técnicas de imunohistoquímica são de extrema importância para o diagnóstico da HCL. Os marcadores de células B, especialmente o CD20, são úteis para a avaliação inicial e quantificação da doença na medula óssea ou, mais raramente, noutros órgãos, evidenciando populações não marcadas pela coloração com Hematoxilina e Eosina. Este marcador é também utilizado na demonstração de doença residual mínima (DRM). O CD72 (DBA.44), sendo moderadamente específico, é utilizado para o diagnóstico definitivo de HCL. Este marcador frequentemente não evidencia a totalidade do infiltrado neoplásico, apresentando pouca utilidade na quantificação da doença. Por outro lado, o CD20 e o DBA.44 são importantes para a demonstração de doença residual mínima (Bethel KJ, 2003) (Jhatakia SA, 2013).

Em 2004, *Falini et al.* descreveram um teste que detecta Anexina A1 (ANXA-1), um gene hiperexpresso na HCL. Neste estudo utilizaram anticorpos monoclonais anti-ANXA-1 em 500 casos de tumores de células B, método que apresentou uma sensibilidade e especificidade de 100% para HCL (Falini B, 2004). De facto, é o marcador mais específico actualmente na medida em que não é expresso noutras patologias linfoproliferativas de células B (Jones G, 2011). Apesar disto, não é um marcador útil para avaliação da doença residual mínima (DRM) porque também é expresso em células mielóides e algumas células T (Jones G, 2011) (Robak T, 2015). Nas secções histológicas da medula óssea pode observar-se um infiltrado linfóide intersticial, que é então evidenciado pelos anticorpos anteriormente referidos (Robak T, 2015). Com alguma frequência, pode observar-se uma medula hipocelular, tornando-se difícil distinguir de uma anemia aplásica e sendo vantajosa a realização de imunofenotipagem com o anticorpo anti-CD20 (Jhatakia SA, 2013). Se o envolvimento medular for total, praticamente não se observa mielopoiese residual; por outro lado, se o envolvimento for parcial, as zonas de hematopoiese são compostas predominantemente por células da linhagem eritróide ou megacariocítica (Allsup DJ, 2002).

O estudo citoquímico TRAP (*tartrate-resistant acid phosphatase*) foi um teste bastante útil no diagnóstico de HCL no passado. Esta técnica pode ser aplicada em esfregaços de sangue periférico ou em biópsias medulares, e tem uma especificidade alta sobretudo se as células forem morfológicamente sugestivas de tricoleucócitos (Bethel KJ, 2003) (Allsup DJ, 2002). Apesar disto, a disponibilidade de anticorpos monoclonais tornou este teste obsoleto (Jones G, 2011).

Um método de diagnóstico relativamente recente, com resultados promissores, consiste na detecção genética da mutação BRAFV600E. Esta técnica permite diferenciar entre HCL e as várias entidades HCL-like (linfoma da zona marginal extranodal, linfoma esplénico da zona marginal e HCL variante), sendo que esta mutação foi identificada como o evento genético definidor (*“driver mutation”*) da HCL (Tiacci E S. G., 2012). O método é simples e barato, e utiliza amostras de sangue periférico processando-as em dois passos: PCR alelo-específica seguida de electroforese em gel de agarose. Num estudo de 2012 conseguiu-se detectar HCL em 100% das 123 amostras estudadas, independentemente da fase do curso da doença que representassem e da quantidade de células leucémicas que contivessem (num valor mínimo de 0.1% de células leucémicas). Para além disso, o teste foi negativo em 100% das 115 amostras de sangue de outras neoplasias, incluindo neoplasias HCL-like (Tiacci E S. G., 2012). Recentemente têm sido desenvolvidos anticorpos monoclonais que detectam a proteína mutada BRAF e que podem ser úteis para a detecção de DRM (Robak T, 2015).

Em casos excepcionais, o diagnóstico é feito pela análise histológica da peça de esplenectomia ou em biópsia esplénica (Jones G, 2011). Ao nível do baço esta patologia vai envolver preferencialmente a polpa vermelha esplénica, verificando-se uma expansão por infiltrado mononuclear e diminuição marcada da polpa branca. Os tricoleucócitos vão substituir as células endoteliais, destruindo a arquitectura vascular dos sinusóides esplénicos e formando lagos vermelhos – áreas de sangue circundadas por tricoleucócitos - frequentemente confundidos com hemangiomas (Bethel KJ, 2003) (Jhatakia SA, 2013) (Allsup DJ, 2002). O envolvimento do baço é bastante particular, no sentido em que não se assemelha a outras neoplasias de células B, podendo assim a histopatologia ser bastante útil no diagnóstico diferencial.

Para além do sangue periférico, medula óssea e baço, a HCL vai afectar outros órgãos, nomeadamente o fígado. Neste, verifica-se uma infiltração dos sinusóides hepáticos e vasos portais, poupando o parênquima. Observam-se também lesões

características que se assemelham a angiomas – áreas de infiltrado focal ao nível dos lóbulos hepáticos (Bethel KJ, 2003) (Jhatakia SA, 2013).

O envolvimento dos gânglios linfáticos, quando presente, é interfolicular e podem existir achados semelhantes aos verificados ao nível do baço e medula óssea – áreas espaçadas de células linfóides, extravasação de eritrócitos e lagos vermelhos. Apesar disto, adenopatias significativas ocorrem apenas em estádios avançados da doença, sendo que as abdominais, especificamente, se relacionam com um tipo morfológico de HCL mais imaturo e uma evolução clínica mais agressiva (Bethel KJ, 2003).

Finalmente, na literatura descrevem-se ainda dois casos de envolvimento aberrante, um relativo a leucemia cútis transitória numa doente com tuberculose pulmonar (Bilsland D, 1991); e outro de presença de tricoleucócitos numa peça de herniorrafia (Melaragno MJ, 1990).

Concluindo, realça-se que o *gold standard* para o diagnóstico de HCL é a caracterização fenotípica das células neoplásicas por citometria de fluxo. A detecção genética da mutação BRAF600E é uma técnica extremamente sensível e específica e promissora.

#### DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL: HCL VARIANTE

A HCL variante é uma entidade biologicamente não relacionada com a HCL clássica e que importa distinguir desta, pelas implicações que terá principalmente ao nível do tratamento (Matutes E M.-T. A., 2015). Esta patologia corresponde a 0.4% das neoplasias linfóides crónicas e a 10% de todas as HCL (Robak T, 2015). Na HCL variante, a idade de apresentação é por volta dos 70 anos, sem preferência de sexo (Allsup DJ, 2002) (Robak T, 2015). Geralmente verifica-se leucocitose, não apresentando a monocitopenia característica da HCL (Matutes E M.-T. A., 2015) (Allsup DJ, 2002). Clinicamente, partilha com a HCL clássica a perda de peso e sintomas de esplenomegália (Allsup DJ, 2002).

O diagnóstico diferencial entre HCL e HCL variante é feito com base numa análise morfológica e imunofenotípica – mantém a expressão de CD11c e CD103, características da HCL clássica, não apresentando positividade para CD123 ou CD25 (Robak T, 2015) (Matutes E M.-T. A., 2015) (Sarvaria A, 2015). Para além do mais esta variante não possui a mutação BRAF V600E (Sarvaria A, 2015), sendo que um terço apresenta mutação TP53 (Robak T, 2015).

Geralmente o tratamento com análogos das purinas resulta numa não resposta ou RP (Matutes E M.-T. A., 2015), sendo que o IFN se verifica igualmente ineficaz (Allsup DJ, 2002). Apesar de tudo, uma combinação de cladribina e rituximab parece ter alguma eficácia nesta patologia (Matutes E M.-T. A., 2015) (Robak T, 2015). Para além disto, um estudo com 19 doentes sujeitos a esplenectomia identificou um boa resposta clínica e hematológica em 13 casos (74%), sugerindo que esta poderá ser uma alternativa viável para o tratamento da HCL variante (Matutes E W. A.-B., 2001). Esta patologia tem uma evolução relativamente crónica, com uma sobrevida média descrita superior a 4 (Allsup DJ, 2002) ou 7-9 anos (Matutes E M.-T. A., 2015).

## TRATAMENTO

Tendo em conta a toxicidade farmacológica, numa doença onde não existem estratégias curativas, torna-se imperativo perceber se o doente tem, ou não, indicação para terapêutica. Apesar de não existirem critérios formais para a tomada desta decisão, existem recomendações. A terapêutica é recomendada em doentes com esplenomegália sintomática; citopénias severas (como uma contagem absoluta de neutrófilos abaixo dos  $1 \times 10^9/\mu\text{l}$ , hemoglobina inferior a 10g/dl e plaquetas abaixo dos  $100 \times 10^9/\mu\text{l}$ ); ou infecções recorrentes ou severas (Sarvaria A, 2015) (Robak T, 2015). A vigilância é uma atitude apropriada no caso de doentes assintomáticos sem citopénias, sendo que terapêutica precoce não oferece benefício, quer a nível de sobrevivência global quer de resposta ao tratamento (Goodman GR B. E., 2003); nestes casos deve proceder-se a uma monitorização com anamnese, exame objectivo e hemograma a cada 3-6 meses (Robak T, 2015).

## ANÁLOGOS DAS PURINAS

Actualmente o tratamento de eleição para a HCL utiliza os análogos das purinas. Dentro deste grupo, os mais comuns são a cladribina (clorodeoxiadenosina ou CdA) e a pentostatina (deoxicoformicina ou dCF), apresentando taxas de resposta e sobrevivência semelhantes (Allsup DJ, 2002) (Sarvaria A, 2015).

### - Cladribina

A cladribina é um análogo sintético, com afinidade para as células linfóides (Sarvaria A, 2015). Geralmente, o esquema utilizado na HCL baseia-se num único ciclo de 7

dias, numa dose de 0.09-0.1mg/kg/dia em infusão contínua (Allsup DJ, 2002) (Sarvaria A, 2015). Este esquema, apesar de extremamente eficaz, resulta numa supressão medular marcada com uma incidência de 42% de neutropénia febril (71% destes vão apresentar neutropénia grau 4 e 16% grau 3); 10% trombocitopénia grau 3 e outros 10% grau 4; 20% anemia grau 3 e 2% anemia grau 4. Apesar destes dados, apenas 13% dos doentes com neutropénia febril têm infecção documentada. O tempo médio para recuperação dos valores após o primeiro ciclo de cladribina é de 49 dias, reduzindo para 45 dias após o segundo ciclo, quando este é necessário (Saven A, 1998).

Outra alternativa é a administração diária em bólus com a duração de 2 horas de uma dose de 0.14mg/kg, durante 5 dias (Goodman GR B. E., 2003). Uma abordagem intermitente semanal (0.15mg/kg x 6), pode ser uma hipótese igualmente eficaz (Robak T, 2015) (Allsup DJ, 2002), observando-se taxas de RC semelhantes entre os três esquemas referidos (Goodman GR B. E., 2003) (Robak T, 2015). Para além do mais, a via de administração, seja ela intravenosa ou subcutânea, aparenta não ter influência ao nível da eficácia do tratamento. No entanto, a via subcutânea tem a vantagem de encurtar o tempo de administração (Robak T, 2015).

Finalmente, no caso de resposta parcial (RP) *Robak e colaboradores* e *Jones e colaboradores* sugerem a repetição do ciclo de cladribina pelo menos 6 meses após final do primeiro ciclo, com ou sem rituximab (Robak T, 2015) (Jones G, 2011).

Relativamente a complicações não imediatas da terapêutica com cladribina, a mais comum são as infecções – *Herpes Zoster*, *Hepatite C*, *Mycobacterium tuberculosis*, entre outras. É ainda importante referir que o estado de imunossupressão se mantém por 6-12 meses após finalização do ciclo, apesar da redução da contagem de CD4+ se poder prolongar até 40 meses (Goodman GR B. E., 2003).

No que toca aos resultados concretos do tratamento, estudos com follow-up de longa duração após terapêutica com cladribina demonstraram RC em 91% dos casos e 7% de RP. Dentro dos doentes em RC, 24% recidivaram após um tempo médio de 30 meses, e entre os doentes em RP, 64% recidivaram após 29 meses (Saven A, 1998). Num estudo em que foram analisados 348 doentes (tratados apenas com um ciclo de cladribina), a taxa de RC e RP foi sobreponível ao referido anteriormente, apresentando, no entanto, um tempo médio livre de doença de 52 meses. 53 doentes foram submetidos a um segundo ciclo de cladribina, sendo que 62% atingiram RC e 26% RP. A sobrevivência foi de 96% aos 48 meses (Saven A, 1998). *Sarvaria e*

*colaboradores* referem ainda 20-30% de recidivas ao fim de 2/3 anos, e uma sobrevivência ao fim de 9 anos de 95% (Sarvaria A, 2015).

#### - Pentostatina

A Pentostatina é um producto natural da *Streptomyces antibioticus*, que actua ligando-se e inibindo a adenosina deaminase (enzima necessária para o metabolismo das purinas, presente em todas as células linfóides) (Sarvaria A, 2015).

Em doentes com uma *clearence* de creatinina de >60ml/min, a dose utilizada é 4mg/m<sup>2</sup> por via endovenosa a cada duas semanas até RC, mais uma ou duas injeções de consolidação (Robak T, 2015) (Sarvaria A, 2015). Por ter excreção renal, é recomendada a não administração deste fármaco em doentes com *clearence* de creatinina <60ml/min; contudo, entre 50 e 60, talvez seja segura a administração de metade da dose (2mg/m<sup>2</sup>) (Allsup DJ, 2002).

Os dois principais efeitos adversos da pentostatina são a neutropénia e a fotossensibilidade (Allsup DJ, 2002); contudo, apesar da neutropénia e de 48% dos doentes apresentarem febre durante o tratamento, apenas metade destes tiveram infecção documentada (Sarvaria A, 2015).

No que respeita ao nível de eficácia do fármaco como tratamento da HCL, estudos de *cohort* revelaram uma taxa de RC entre 64-89%, com sobrevivência livre de doença aos 5 anos de 80-88% e aos 10 anos de 67-73% (Sarvaria A, 2015).

Apesar de não existirem estudos de comparação directa entre a cladribina e a pentostatina, ambos os fármacos parecem induzir taxas de resposta igualmente altas, além de duração de resposta, taxas de recidiva e efeitos adversos semelhantes. Apesar disso, o esquema de administração de cladribina é mais conveniente (Robak T, 2015).

#### TERAPÊUTICA DE SUPORTE

A utilização de factores de estimulação granulocitária como o G-CSF está indicada em doentes neutropénicos infectados que não respondam rapidamente a antibioterapia, melhorando assim a contagem de neutrófilos, tanto na neutropénia relacionada com a patologia como com o tratamento (Allsup DJ, 2002). No entanto, é importante referir que a adição de filgrastim ao esquema de cladribina, apesar de melhorar a contagem de neutrófilos, não parece alterar o número de dias de hospitalização, nem de doentes hospitalizados ou dias de febre; nesse sentido, a sua

utilização rotineira não é vantajosa (Sarvaria A, 2015) (Goodman GR B. E., 2003) nem recomendada (Robak T, 2015).

Doentes tratados com nucleósidos e com linfopenia devem fazer profilaxia com cotrimoxazol 960mg três vezes por semana e aciclovir 200mg três vezes por dia até a contagem de linfócitos atingir um valor superior a  $1 \times 10^9/l$ , prevenindo infecções a *pneumocystis* e reactivação de herpes, respectivamente. Esta terapêutica deve ser iniciada uma semana após o tratamento com análogos das purinas, com o intuito de reduzir a incidência de reacção alérgica cutânea (Robak T, 2015).

#### IFN alfa

O interferão alfa (IFN alfa) foi a primeira terapêutica farmacológica a obter um efeito significativo nos doentes com HCL, permitindo melhoria da anemia, leucopenia e trombocitopenia, e apresentando taxas de RC por volta dos 10% (Sarvaria A, 2015). Apesar disso, as suas vantagens foram suplantadas pela introdução dos análogos das purinas, fármacos muito mais específicos e eficazes no tratamento da HCL.

Na actualidade, o INF alfa pode ter ainda utilidade no caso de doentes com neutropenia grave ( $<0.2 \times 10^9/l$ ), antes de iniciarem terapêutica com análogos das purinas – esquema com a duração de algumas semanas e uma dose diária máxima de 3mU (Allsup DJ, 2002) (Goodman GR B. E., 2003). *Jones e colaboradores* referem que a administração de IFN previamente à terapêutica com pentostatina pode melhorar os resultados a longo prazo e diminuir o número de injeções necessárias para atingir RC (Jones G, 2011). Uma revisão de Outubro de 2015, refere também utilidade na HCL recidivante e como terapêutica de manutenção (Sarvaria A, 2015). *Robak e colaboradores* enfatizam a possibilidade de administração de IFN em doentes grávidas (Robak T, 2015).

Como efeitos secundários, este fármaco apresenta, entre outros, uma síndrome gripal com febre, mialgias e mal estar (Goodman GR B. E., 2003).

#### NOVAS TERAPÊUTICAS

##### - Inibidores BRAF e via BRAF/MEK/ERK

Em 2011, *Tiacci e colaboradores* descreveram a presença da mutação V600E do gene BRAF no exão 15 (pode ocorrer raramente no 11). Esta mutação, presente em praticamente 100% dos casos de HCL, está relacionada com uma substituição de

valina por glutamina no protooncogene BRAF que leva à activação da via RAF/MEK-ERK, resultando num aumento da proliferação e sobrevivência celular, por inibição da apoptose (Robak T, 2015) (Tiacchi E T. V., 2011) (Dietrich S Z. T., 2015).

Vários estudos têm sido feitos com o objectivo de testar novos fármacos com acção ao nível desta mutação. Num destes, foram incubados tricoleucócitos *in vitro* com inibidores da BRAF (vemurafenib e dabrafenib) e/ou um inibidor da MEK (trametinib). O que se verificou foi uma desfosforilação MEK/ERK e uma diminuição da expressão do CD25 e TRAP. Para além disso, os tricoleucócitos parecem perder as suas vilosidades características (Pettirossi V, 2015).

Outros trabalhos sugerem uma possível eficácia do vemurafenib na HCL. De facto, num estudo com 17 doentes previamente tratados e que fizeram vemurafenib durante pelo menos 3 meses, ao fim de 10 meses verificaram-se 6 RC e 11 RP (Sarvaria A, 2015). Noutro estudo com 28 doentes com HCL refractária ou recidivante, a duração média de tratamento foi 16 semanas com uma taxa de RC de 35%. Neste caso, após 23 meses de *follow-up*, o tempo médio livre de doença era de 19 meses, dentro do grupo que obteve RC, e de 6 meses no grupo que obteve RP. Os efeitos adversos observados foram geralmente de grau 1 ou 2 e reversíveis; e três desenvolveram carcinoma basocelular N2 ou melanoma superficial, tendo sido tratados com sucesso apenas com excisão (Tiacchi E P. J., 2015). É ainda importante referir que os queratoacantomas descritos no tratamento do melanoma com este mesmo agente não foram encontrados nestes estudos (Sarvaria A, 2015).

Em relação ao dabrafenib, um inibidor reversível da BRAF com uma semi-vida inferior à do vemurafenib e que é utilizado no tratamento do melanoma, estudos recentes demonstraram eficácia deste fármaco no tratamento da HCL (Vergote V, 2014) (Blachly JS, 2015).

Actualmente, doentes com HCL refractária com tratamento prévio extenso ou doentes com infecção activa, poderão ser candidatos para tratamento com inibidores da BRAF (Dietrich S Z. T., 2015).

#### - Ibrutinib

Este fármaco é um inibidor selectivo e irreversível da BTK (Bruton tyrosine kinase), um elemento fundamental na sinalização constitutiva através do receptor antigénico que caracteriza as neoplasias malignas de células B. Estão a decorrer actualmente



estudos para avaliar a eficácia deste fármaco para o tratamento da HCL refractária, sendo que resultados preliminares apontam para uma boa tolerância (Sarvaria A, 2015).

#### - Imunitoxinas recombinantes

As imunitoxinas recombinantes são proteínas constituídas por um anticorpo dirigido contra um antígeno presente nas células neoplásicas e uma toxina capaz de as destruir, como uma exotoxina de *Pseudomonas*. Os estudos focaram-se no CD22 e CD25 como alvos (Kreitman R J, 2015).

Em relação ao CD22, num estudo de fase 2 em que utilizaram a imunitoxina BL22, 9 dos 36 doentes com HCL refractária ou recidivante apresentaram RC (25%) após um ciclo de terapêutica; 20 doentes foram sujeitos a segundo ciclo, sendo que no total o estudo conseguiu 17 RC (47%) (Sarvaria A, 2015). Posteriormente, desenvolveu-se uma versão deste fármaco, mas com maior afinidade – moxetumomab pasudotox, atingindo 46% de RC num estudo de fase I onde foram incluídos 28 doentes com HCL resistente ou recidivante (Kreitman RJ T. M., 2012). Actualmente este fármaco está em estudo multicêntrico de fase 3 (Kreitman R J, 2015).

Relativamente ao CD25 como alvo terapêutico, os resultados não foram satisfatórios, com apenas 1 caso de RC num estudo de fase 1 que envolveu 4 doentes tratados com LMB-2 (Kreitman RJ W. W., 2000). Este fármaco está actualmente em estudo de fase 2 em doentes tratados previamente com imunitoxinas recombinantes anti-CD22 ou sem indicação para moxetumomab pasudotox (Kreitman R J, 2015).

#### ESPLENECTOMIA

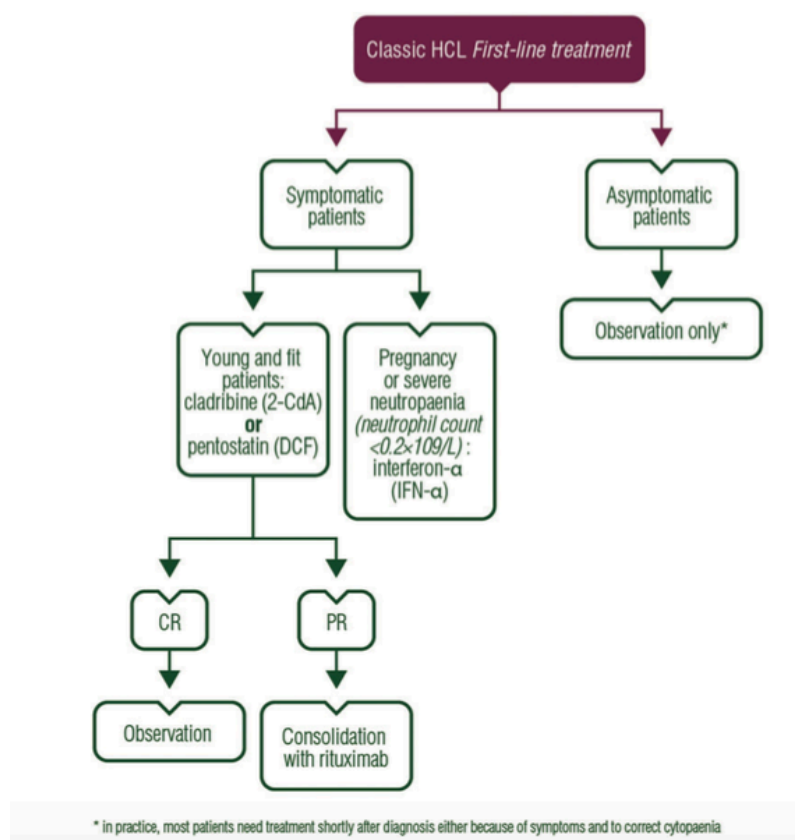
Esta foi a primeira intervenção que demonstrou algum impacto na evolução da doença, apresentando taxas de sobrevida aos 5 anos na ordem dos 61-68%, para além de uma taxa de RC de 40-62% (Sarvaria A, 2015).

Com o desenvolvimento de novas terapêuticas mais direccionadas para a HCL, a esplenectomia foi sendo substituída, mantendo, no entanto, possível indicação no caso de esplenomegália sintomática, trombocitopenia severa com hemorragia, gravidez e infecções activas (Sarvaria A, 2015) (Goodman GR B. E., 2003). A terapêutica sistémica não deve ser iniciada antes de 6 meses após esplenectomia por forma a atingir os benefícios máximos desta terapêutica (Robak T, 2015).

## GRAVIDEZ

O tratamento durante a gravidez deve ser iniciado apenas quando estritamente necessário e vai depender do tempo da gravidez, da cinética de progressão da doença e da resposta a terapêutica prévia. Se existir indicação terapêutica, o IFN alfa é o fármaco de escolha, pelo baixo risco tanto para a mãe como para o bebé (Robak T, 2015) (Jones G, 2011). No caso de o IFN se demonstrar ineficaz e especialmente na gravidez de poucas semanas, a esplenectomia pode ser uma alternativa. A cladribina e o rituximab apresentam risco teratogénico, não podendo ser utilizados na gravidez (Robak T, 2015).

Na Figura 1 é apresentado o algoritmo terapêutico de primeira linha recomendado actualmente para os doentes com HCL.



Robak T, Matutes E, Catovsky D et al. (2015) Hairy cell leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* 00: 3.

Figura 1. Terapêutica de 1ª linha na HCL

## RECIDIVA/HCL REFRACTÁRIA

Apesar da grande eficácia dos análogos das purinas, cerca de 40% dos doentes recidivam (Pettirossi V, 2015) e 10% dos doentes apresentam resistência primária aos análogos das purinas, sendo que outros podem adquiri-la ao longo do tratamento (Allsup DJ, 2002).

Na terapêutica da recidiva, doentes que realizaram tratamento com cladribina ou pentostatina há mais de 12-18 meses são geralmente tratados com o análogo da purina que não utilizaram no ciclo inicial; doentes com um tempo livre de doença superior a 18 meses poderão repetir o análogo das purinas utilizado no primeiro ciclo (Robak T, 2015). *Jones e colaboradores* referem a mesma orientação, com a diferença de sugerirem um *cutoff* de 2 anos (Jones G, 2011).

A probabilidade de RC num doente que inicialmente tenha sido tratado com cladribina e que repita este fármaco é de 52-75%; no caso de uma segunda recidiva, um terceiro ciclo de cladribina associa-se a RC em 60% (Sarvaria A, 2015). De facto, verifica-se uma diminuição da taxa de RC apesar de o tempo de duração desta após o tratamento se manter semelhante, quer esteja o doente no primeiro, segundo ou terceiro ciclo de terapêutica (Robak T, 2015) (Jones G, 2011). Em relação a tratamentos com pentostatina em monoterapia ou a uma alternância entre os dois análogos das purinas, estudos demonstram resultados semelhantes, quer de taxa de RC ou de recidiva quer de progressão da doença (Sarvaria A, 2015).

O Rituximab, numa dose de  $375\text{mg}/\text{m}^2$  1x por semana 4-8 ciclos por via endovenosa, pode ser usado no tratamento da recidiva. Contudo, utilizado em monoterapia é inferior aos análogos das purinas (Robak T, 2015). Por outro lado, quando administrado em combinação com um esquema de cladribina ou pentostatina apresenta bons resultados, sendo indicado sobretudo nas recidivas precoces (Robak T, 2015) (Jones G, 2011).

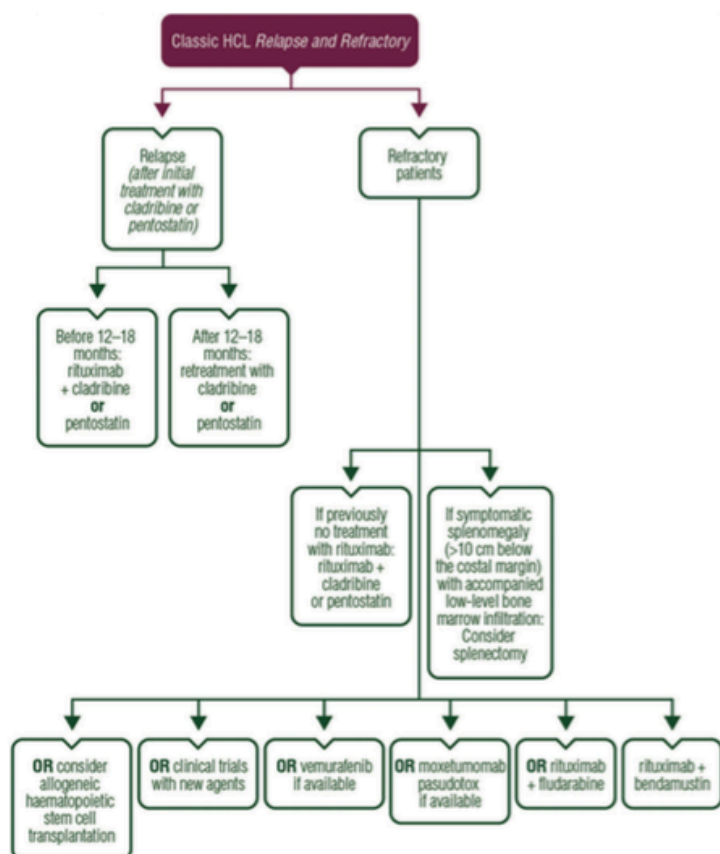
Concretamente, a taxa de RC após um ciclo de rituximab em monoterapia varia entre 10-55% (Sarvaria A, 2015). No caso de terapêutica conjunta de rituximab com um análogo das purinas, a taxa de RC foi de 92%, ou seja, superior aos doentes tratados apenas com análogo das purinas (Else M, 2009). Outro estudo, desta vez com terapêutica combinada de fludarabina e rituximab demonstrou uma taxa de RC de 92% (Gerrie AS, 2012). O esquema utilizado é composto por  $40\text{mg}/\text{m}^2$  de fludarabina oral durante 5 dias consecutivos em combinação com injeções intravenosas de  $375\text{mg}/\text{m}^2$  de rituximab no dia 1, e a cada 28 dias por 4 ciclos (Robak T, 2015).

Pode ainda considerar-se a utilização de 70-90mg/m<sup>2</sup> de bendamustina (fármaco com efeito alquilante e análogo das purinas) com rituximab quando as outras opções falharam (Robak T, 2015). Um estudo de 12 doentes, refractários à terapêutica, demonstrou taxas de RC entre 50-67% após ciclo de rituximab e bendamustina (Burotto M, 2013).

Outras alternativas promissoras na HCL refractária são o moxetumomab pasudotox (imunotoxina recombinante anti CD22) e o vemurafenib (inibidor BRAFV600E) (Robak T, 2015).

Finalmente, existe ainda a possibilidade de transplante alogénico de células estaminais no caso de doentes jovens, com recidivas múltiplas e refractários a análogos das purinas e rituximab (Robak T, 2015).

Na Figura 2 pode observar-se o algoritmo actualmente recomendado no que respeita à terapêutica da HCL recidivante ou refractária.



Robak T, Matutes E, Catovsky D et al. (2015) Hairy cell leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* 00: 5.

Figura 2. Terapêutica de 2ª linha na HCL

## AValiação DA RESPOSTA

Para a avaliação da resposta à terapêutica, feita através da análise medular após recuperação hematológica - geralmente 4-6 meses após cladribina ou após 8-9 ciclos de pentostatina (Jones G, 2011) (Robak T, 2015), tem que haver uma distinção entre os conceitos de RC, RP, DRM e recidiva. Na RC não existem tricoleucócitos no sangue periférico e nem na biópsia da medula óssea e existe normalização das organomegalias e hemograma; na RP verifica-se normalização do hemograma, uma redução de pelo menos 50% nas organomegalias e na percentagem de tricoleucócitos na medula óssea, e a existência de <5% de tricoleucócitos circulantes. Apesar dos dados relativos à sobrevida serem bastante favoráveis, um número significativo de doentes mantém um grau de DRM que envolve até 10% da celularidade medular, envolvimento este detectado por estudo imunohistoquímico e de citometria de fluxo (Bethel KJ, 2003). Salienta-se que em geral, a sua erradicação não é habitualmente um objectivo terapêutico (Robak T, 2015) (Jones G, 2011). Finalmente, uma recidiva/progressão define-se como qualquer deterioração nas contagens celulares relacionada com a detecção de tricoleucócitos no sangue periférico e/ou medula óssea e/ou aumento da esplenomegália (Robak T, 2015) (Jones G, 2011) após obtenção da resposta inicial.

Apesar de tudo, põe-se a questão da sobreposição de critérios. De facto, pela falta de sensibilidade dos testes realizados por rotina na avaliação pós terapêutica, até 50% dos doentes considerados em RC poderão afinal apresentar DRM quando usadas técnicas um pouco mais sensíveis (Bethel KJ, 2003). Os marcadores CD20 e DBA.44, apesar de não serem específicos para HCL, e por isso poderem corar 6-12% de linfócitos não neoplásicos, podem ser uma ferramenta útil na pesquisa de DRM, como referido anteriormente. Para colmatar a falta de especificidade, importa ter atenção à percentagem de células que expressam estes dois marcadores – se esta for menor que 5% só poderá ser feito o diagnóstico de DRM se houver evidência de HCL nos testes imunohistoquímicos, citoquímicos ou na citometria de fluxo (Bethel KJ, 2003).

## NEOPLASIAS SECUNDÁRIAS

Se a HCL se associa, ou não, a uma probabilidade aumentada de desenvolvimento de neoplasias secundárias é um tema bastante polémico. De facto, desde há vários anos que se debate este assunto, havendo estudos que corroboraram esta hipótese. Um estudo retrospectivo relativo ao tratamento com IFN alfa, demonstrou uma

probabilidade 4 vezes aumentada de desenvolvimento de neoplasias secundárias (Kampmeier P, 1994). Noutro estudo, desta vez relativo a doentes tratados com cladribina, 22% desenvolveram uma neoplasia secundária (Goodman GR B. C., 2003; Goodman GR B. C., 2003). Finalmente, num estudo de follow-up médio de 5 anos, foram avaliados 117 doentes e foi concluído que havia nesta população uma probabilidade aumentada de desenvolvimento de neoplasias, quando comparados com o grupo controlo (Au WY, 1998). *Robak e colaboradores* referem que a frequência de neoplasias secundárias está aumentada tanto nos doentes sujeitos a terapêutica como nos não tratados, sendo que 10% desenvolve neoplasias sólidas ou hematológicas após o diagnóstico de HCL, particularmente doenças linfoproliferativas crónicas (Mieloma Múltiplo, Linfoma de Hodgkin e não Hodgkin), melanoma e neoplasia da tiróide (Robak T, 2015).

Apesar disto, inúmeros estudos retrospectivos têm demonstrado probabilidades de desenvolvimento de neoplasia secundária não superiores às encontradas nos indivíduos da mesma idade sem HCL (Kurzrock R, 1997).

## PROGNÓSTICO

Apesar de não existir um sistema internacional de prognóstico para a estratificação do risco, as variáveis clínicas que foram consideradas como factores de mau prognóstico incluem o grau de citopénias ( $Hb < 10g/dl$ , plaquetas  $< 100 \times 10^9/l$  e neutrófilos  $< 1 \times 10^9/l$ ) e a presença de adenopatias (prediz uma má resposta aos análogos das purinas) (Robak T, 2015) (Jones G, 2011). Os factores biológicos associados a um curso da doença menos favorável são a presença de mutação TP53 e a ausência de hipermutação somática nos genes IGVH (Robak T, 2015). Para além destes, uma RP aos análogos das purinas é também tida como factor de mau prognóstico (Jones G, 2011).

Ao longo dos anos, houve um grande desenvolvimento de terapêuticas cada vez mais eficazes para a HCL, culminado numa elevada percentagem de RC. Anteriormente à introdução dos análogos das purinas/IFN alfa, a sobrevivência rondava os 50 meses (Sarvaria A, 2015) (Allsup DJ, 2002); com a utilização deste tipo de terapêutica, registou-se uma sobrevivência aos 5 anos de 95% e aos 10 anos de 80% (Allsup DJ, 2002). Relativamente ao tempo livre de doença, dados apontam para 80% aos 5 anos e 65% aos 10 anos (Allsup DJ, 2002).

## MÉTODOS

Neste trabalho foram analisados retrospectivamente todos os casos de HCL com início de seguimento no Instituto Português de Oncologia de Lisboa entre 2003 e 2015.

A selecção inicial foi feita através dos registos informáticos relativos aos doentes com o diagnóstico de HCL, tendo-se obtido 27 casos.

Posteriormente, consultaram-se os processos escritos e electrónicos, os quais foram acedidos através do arquivo do IPO e do seu sistema informático. Nesta fase foi revista toda a informação relativa aos achados clínicos, morfológicos, imunofenotípicos e histológicos ao diagnóstico, assim como todos os registos médicos relacionados com atitudes terapêuticas e evolução clínica.

Foram analisados os dados relacionados com a epidemiologia, apresentação clínica, terapêutica, recidiva e sobrevivência (global e livre de doença) nesta população. Dado a dimensão da amostra, não foi possível comparar a evolução clínica nos vários subgrupos terapêuticos. Assim, a análise estatística foi predominantemente descritiva. Os casos que, por falta de informação não foi possível integrar nas categorias descritas foram agrupados numa categoria independente por forma a contabilizar os resultados desconhecidos.

## RESULTADOS

### Caracterização da população

A idade média de apresentação da doença foi de 56.48 anos, com um máximo de 76 anos, um mínimo de 35 e uma mediana de 58 anos (Tabela 1). Relativamente à distribuição da HCL por sexo, verificou-se que 70% dos casos estudados correspondem a doentes do sexo masculino (n=19) e 30% a doentes do sexo feminino (n=8) (Tabela 2).

Fazendo uma análise por faixas etárias, verificaram-se 4 casos dentro do intervalo de idades [35,44], 8 casos no grupo [45,54], 8 casos entre [55,64], 5 entre [65,74] e 2 entre os [75,84]. Estes resultados encontram-se na Tabela 3.

No sexo masculino, o pico máximo de incidência desta patologia situa-se na faixa etária entre os 55 e os 64 anos; neste grupo estão inseridos 37% dos homens deste estudo. No sexo feminino, o padrão apresenta-se com dois picos – um primeiro na faixa etária entre os 45 e os 54 anos de idade, e que corresponde a 36% das mulheres avaliadas no estudo (n=3); e um segundo entre os 65 e os 74 anos, com 25% das mulheres aqui inseridas (n=2).

Idade	
Média	56,48
Mediana	58,00
Máximo	76,00
Mínimo	35,00

Tabela 1. Idade de apresentação

Sexo	Nº	%
Masculino	19	70,37
Feminino	8	29,63

Tabela 2. Distribuição por sexo

Faixa etária	Nº	%	Masculino	%	Feminino	%
0-34	0	0	0	0	0	0
35-44	4	15	3	16	1	13
45-54	8	30	5	26	3	36
55-64	8	30	7	37	1	13
65-74	5	18	3	16	2	25
75-84	2	7	1	5	1	13

Tabela 3. Distribuição por faixas etárias

No que respeita aos antecedentes pessoais foi apurada uma lista longa e variada de factores. De pertinente, foi encontrada história de tabagismo em 15.52% dos doentes (n=5) e artrite reumatóide, carcinoma da tiróide e neoplasia prostática cada um com 7.41% de incidência (n=2) (ver Tabela 4). Em nenhum dos doentes deste estudo foi



encontrado registo de exposição a solventes, herbicidas, fungicidas ou outros factores ambientais de relevo.

Na história familiar, existe uma incidência de neoplasias nos parentes de primeiro ou segundo grau de 51.81%. As neoplasias com maior prevalência na população em estudo foram a neoplasia da mama (15.52%, n=5), a neoplasia do cólon (14.81%, n=4), a neoplasia prostática (11.11%, n=3) e a neoplasia gástrica (7.41%, n=2) (ver Tabela 5).

<b>Antecedentes</b>		
<b>Pessoais</b>	<b>Nº</b>	<b>%</b>
Artrite		
Reumatóide	2	7,41
Neoplasias		
Próstata	2	7,41
Mama	1	3,7
Tiróide	2	7,41
Adenoma		
Suprarenal	1	3,7
Tabaco	5	15,52
Hábitos etanólicos	3	11,11

Tabela 4. Antecedentes Pessoais

<b>Antecedentes</b>		
<b>Familiares</b>	<b>Nº</b>	<b>%</b>
Neoplasia		
Próstata	3	11,11
Mama	5	15,52
Cólon	4	14,81
Vias biliares	1	3,7
Útero	1	3,7
Traqueia	1	3,7
Estômago	2	7,41
Fígado	1	3,7
Ovários	1	3,7
<b>NEOPLASIA</b>	<b>14</b>	<b>51,81</b>

Tabela 5. Antecedentes Familiares

Como se pode ver na Tabela 6, na amostra estudada, 51.85% dos doentes apresentaram-se inicialmente assintomáticos, sendo a suspeita diagnóstica gerada por alterações analíticas em exames laboratoriais de rotina. No entanto, numa percentagem considerável dos casos (18.52%) as alterações analíticas foram acompanhadas de astenia. Outros motivos de consulta incluíram esplenomegália identificada (7.41%, n=2) e anorexia e perda ponderal (n=1).

Na população estudada observou-se hepatomegália em apenas 3 casos (11.11%) e esplenomegália em 40.74% (n=11). No que respeita a adenopatias, há registo destas em 3 doentes (11.11%), sendo que dos três casos, 2 seriam adenopatias periféricas e 1 seria adenopatia intraabdominal (Tabela 7).

As alterações laboratoriais observadas durante o estudo inicial do quadro encontram-se descritas na Tabela 8. Apenas dois doentes de entre os 27 analisados não apresentaram citopenia. Explorando melhor as contagens celulares, observou-se que 40.74% da população (n=11) apresentava pancitopenia. Dentro da linhagem eritróide observou-se anemia em 55.56% dos casos (n=15), sendo que destes, 73.33% teriam

anemia de grau 1 (Hb entre 12 e 10g/dl) e 13.33% anemia de grau 2 (Hb entre 8 e 10 g/dl). No que respeita à contagem de leucócitos, 62.96% dos doentes apresentaram leucopénia (n=17), sendo que em 4 doentes há registo de leucocitose (com linfocitose). De entre os doentes neutropénicos (n=18), a maior parte (44.44%, n=8) apresentava uma contagem de neutrófilos entre 500-1000/mm<sup>3</sup> (grau 3) e 2 uma neutropénia grave, abaixo dos 500/μl (11.76%). Finalmente, no que respeita à trombocitopénia, esta observou-se em 19 doentes (70.37%), sendo que cerca de metade dos casos (52.63%, n=10) apresentava plaquetas diminuídas num valor mínimo de 75000/mm<sup>3</sup>.

Motivo de Consulta	Nº	%
Alterações analíticas sem outros sintomas	14	51,85
Astenia e dor na grelha costal	1	3,7
Anorexia e perda ponderal	1	3,7
Esplenomegália	2	7,41
Alterações analíticas e astenia	5	18,52
Outros	2	7,41
Desconhecido	2	7,41

Tabela 6. Motivo de Consulta

Exame	Nº	%
Objectivo		
Hepatomegália	3	11,11
Esplenomegália	11	40,74
Adenopatias	3	11,11
Periféricas	2	66,67
Intraabdominais	1	33,33

Tabela 7. Apresentação Clínica – Alterações no Exame Objectivo

Alterações Analíticas	Nº	%
Pancitopénia	11	40,74
Bicitopénia	6	22,22
Anemia	15	55,56
Grau1	11	73,33
Grau2	2	13,33
Grau3	1	6,67
Leucopénia	17	62,96
Grau1	5	29,41
Grau2	8	47,06
Grau3	3	17,65
Grau4	1	5,88
Neutropénia	18	66,67
Grau1	6	33,33
Grau2	2	11,11
Grau3	8	44,44
Grau4	2	11,11
Trombocitopénia	19	70,37
Grau1	10	52,63
Grau2	5	26,32

Grau3	3	15,79
Leucocitose	4	14,81
Linfocitose	4	14,81
Elevação das transaminases	2	7,41

Tabela 8. Apresentação Clínica – Alterações laboratoriais

Relativamente aos exames complementares de diagnóstico, avaliaram-se inicialmente os resultados da histologia da medula óssea para a presença ou ausência de fibrose medular (Tabela 9). Destes, apenas 4 relatavam fibrose medular (14,81%), pelo contrário, em 23 doentes não existiam alterações fibróticas.

No que respeita ao estudo imunofenotípico, na grande maioria dos doentes a amostra utilizada foi de medula óssea. Por outro lado, em três casos foi realizada apenas análise de sangue periférico. Não existe informação relativa a este tipo de estudo em dois doentes, já que num deles o diagnóstico é de 1996, altura em que ainda não existiam registos informáticos; o segundo doente realizou o estudo fora do IPO não havendo quaisquer dados relativamente à imunofenotipagem original.

Os resultados da imunofenotipagem encontram-se na Tabela 10. Todos os doentes avaliados apresentavam uma população monoclonal CD20+. Entre eles, cerca de 1/3 (n=8) apresentava um fenótipo típico de HCL, com expressão de CD11c, CD25 e CD103. De entre os antígenos comuns na HCL, 91.67% das populações neoplásicas expressam CD11c (n=22), 58.33% CD103 (n=14) e 45.83% expressam CD79b (n=11). Finalmente, em 16.67% dos doentes existe registo de positividade para a Anexina A1 (n=4) e em 54.17% LAIR-1 (n=13). Em nenhum doente o fenótipo foi sugestivo de HCL variante.

Apenas 5 dos 27 doentes realizaram estudo citogenético medular, sendo que em nenhum deles foram encontradas anomalias cromossómicas.

Importa referir que nenhum dos 27 doentes estudados realizou pesquisa genética da mutação BRAF-V600E.

<b>Histologia da Medula Óssea</b>		
	<b>Nº</b>	<b>%</b>
Com fibrose	4	14,81
Sem fibrose	23	85,19

Tabela 9. Histologia da Medula Óssea

<b>Imunofenotipagem</b>	<b>Nº</b>	<b>%</b>
CD20+	24	100
CD79b+	11	44
CD11c+	22	92
CD19+	12	52
CD103+	14	60
CD305+	1	4

CD25+	8	32
CD38+	2	8
LAIR-1	13	56
Anexina A1	4	16
Sem informação	2	7,41

Tabela 10. Imunofenotipagem

### Caracterização Terapêutica

Analisando a terapêutica de 1ª linha utilizada na população em estudo (Tabela 11), verificou-se que 73.08% dos casos recebeu cladribina (n=19), em 23.08% foi adoptada uma atitude de vigilância (n=6) e 1 doente (diagnosticado em Novembro de 2010) foi sujeito a esplenectomia. O último caso tinha indicação para iniciar cladribina mas foi perdido para follow up antes do início da terapêutica. O doente que realizou esplenectomia fê-lo no seguimento de um Linfoma não Hodgkin de células B concomitante, o qual veio a ser confirmado na análise patológica da peça operatória como Linfoma Folicular. A mesma análise histopatológica não demonstrou células sugestivas de HCL pelo que se optou por não incluir este caso na avaliação da resposta à terapêutica.

Dentro do grupo de doentes tratados com cladribina, 47.37% (n=9) realizaram um esquema de 5 dias com perfusão de 2 h de uma dose de cladribina entre 0.12-0.14mg/kg/dia e 52.63% (n=10) realizaram um esquema de 7 dias numa dose entre 0.09-0.1mg/kg/dia em perfusão contínua. Relativamente à resposta à terapêutica, 73.68% (n=14) atingiu RC, 21.05% (n=4) atingiu RP e 1 doente foi refractário ao tratamento, tendo necessidade de receber um segundo esquema de cladribina com rituximab.

Como se pode observar na Tabela 12, as taxas de resposta foram semelhantes nos dois regimes de cladribina utilizados; no caso do esquema de 5 dias com perfusão de 2 h de uma dose entre 0.12-0.14mg/kg/dia, verificou-se RC em 7 dos 9 doentes (77.78%) e RP nos restantes dois doentes; já no caso do esquema de 7 dias numa dose entre 0.09-0.1mg/kg/dia em perfusão contínua estão relatados 7 casos de RC (70%), 2 de RP (20%) e 1 refractário ao tratamento (10%).

<b>Tratamento de 1ª linha</b>	<b>Nº</b>	<b>%</b>
Nunca tratados	6	23,08
Cladribina	19	73,08
0.12-0.14mg/kg/dia	9	47,37
0.09-0.1mg/kg/dia	10	52,63
Esplenectomia	1	3,84

Tabela 11. Terapêutica de 1ª linha

<b>Resposta 1ª linha de tratamento</b>	<b>Nº</b>	<b>%</b>
RC	14	73,68
0.12-0.14mg/kg/dia	7	77,78
0.09-0.1mg/kg/dia	7	70
RP	4	21,05
0.12-0.14mg/kg/dia	2	
0.09-0.1mg/kg/dia	2	
Refractária	1	5,26
0.12-0.14mg/kg/dia	0	
0.09-0.1mg/kg/dia	1	

Tabela 12. Resposta à terapêutica de 1ª linha

### Complicações/toxicidades do tratamento

Para a avaliação da ocorrência de infecções, do grupo de 26 doentes que mantiveram seguimento no IPO de Lisboa, retirou-se um doente cuja informação no que toca a infecções se demonstrou insuficiente e um doente que adiou terapêutica por estar a realizar quimioterapia para uma neoplasia da mama, sendo que este facto tornaria impossível estabelecer qualquer relação entre as complicações da HCL e as complicações do tratamento da neoplasia concomitante.

Dos restantes 24 doentes, verificou-se que em 58.33% dos casos (n=14), não se registaram infecções durante o acompanhamento no IPO, sendo que no total ocorreram 16 episódios infecciosos nesta série. 29.17% dos doentes (n=7) apresentou 1 episódio infeccioso e 12.5% apresentaram mais do que 2 infecções ao longo do seu acompanhamento no IPO (n=3) (Tabela 13).

No que respeita à relação temporal entre a ocorrência de infecção e terapêutica, 31.25% dos episódios (n=5) aconteceram até um máximo de 10 dias após o tratamento com cladribina; 18.75% (n=3) foram relatados entre 10 dias e um mês após terapêutica; entretanto a incidência vai decrescendo até que volta a aumentar na categoria superior a um ano com 31.25% dos episódios (n=5), sendo que um desses casos corresponde a uma infecção dois anos após o diagnóstico, num doente em que se optou pela vigilância e a não realização de terapêutica. De facto, dos doentes não tratados, apenas um apresenta registo de infecção durante o seu acompanhamento no IPO.

Em relação ao tipo de infecção, conclui-se que a grande maioria dos episódios descritos dizem respeito a neutropénia febril sem foco identificado, correspondendo a 43.75% (n=7). Dos restantes, em 31.25% está descrito como infecção respiratória

(n=5). A grande maioria dos doentes não tem agente etiológico isolado. O único caso descrito corresponde a um *Mycobacterium tuberculosis* acompanhado de *Candida*.

Relativamente à terapêutica dos episódios infecciosos, 13 dos 16 necessitaram de antibioterapia (81.25%) e 50% dos doentes infectados não estavam a realizar terapêutica profilática; apenas 1 doente se encontrava a realizar terapêutica profilática com Aciclovir e Fluconazol.

<b>Nº Infecções por doente</b>	<b>Nº</b>	<b>%</b>
0	14	58,33
1	7	29,17
2	0	0
>2	3	12,5

Tabela 13. Infecções

### Evolução clínica

Na análise da evolução clínica excluíram-se novamente o doente perdido para follow-up e o doente que estava a realizar terapêutica para uma neoplasia da mama previamente ao diagnóstico de HCL.

Com um follow up mediano de 5 anos (1 a 19) dos doentes vivos, observou-se que nenhum dos doentes inicialmente mantidos em vigilância registou progressão da HCL. Por outro lado, 11 dos 19 doentes tratados com cladribina (57,89%) continuavam em resposta e livres de recidiva à data da última avaliação; os restantes 8 apresentaram apenas uma recidiva (42.11%), que ocorreu entre 2 e 7 anos após a primeira terapêutica.

Após a recidiva, 50% dos doentes (n=4), realizaram novo tratamento com cladribina, 2 doentes fizeram pentostatina e 1 realizou um esquema de pentostatina em combinação com rituximab. Deste grupo, 8 (100%) doentes obtiveram RC.

Avaliando a sobrevivência livre de progressão após a 1ª linha terapêutica, tendo em consideração uma mediana de follow-up da população em estudo de 5 anos, obteve-se uma média de 5,28 anos, uma mediana de 4 anos, com um máximo de 19 e um mínimo de 1. Por outro lado, a sobrevivência livre de progressão média após 2ª linha terapêutica foi de 1.65 anos, com uma mediana de 1.5, (máximo de 4 anos e mínimo de 2 meses).

À data do ultimo follow-up encontravam-se vivos 22 dos 26 doentes (84.62%). A sobrevivência global da amostra estudada, foi em média de 5.69, com uma mediana de 5 anos, um máximo de 19 e um mínimo de 1 ano.

Recidiva	Nº	%
0	11	57,89
1	8	42,11
2	0	0
>2	0	0

Tabela 14. Recidivas

Terapêutica de 2ª linha	Nº
Cladribina	4
Pentostatina	2
Pentostatina+Rituximab	1
Sem informação	1

Tabela 15. Terapêutica de 2ª linha

Foram estudadas as causas de morte dos 4 doentes que faleceram durante o seguimento. Concluiu-se que nenhuma das mortes parece ter sido causada directamente pela HCL. De facto, um dos doentes faleceu na sequência de um adenocarcinoma da próstata metastizado, outro faleceu no contexto de evolução para LMA em sépsis após indução com daunorrubicina e citosina arabinosida, o terceiro na sequência da sua neoplasia da mama prévia e o último no seguimento de um linfoma folicular concomitante. Assim, nesta série a sobrevivência específica é de 100%.

Relativamente à hipótese de aumento da probabilidade de desenvolvimento de neoplasias secundárias, apesar de haver uma grande incidência familiar de neoplasia amostra estudada, não há evidência de uma incidência significativa de neoplasia secundária à HCL num follow-up mediano de 5 anos. De facto, dos 26 doentes, apenas 2 apresentam história de neoplasia posterior ao diagnóstico de HCL, sendo um doente com neoplasia da próstata, cólon e mesotelioma e um doente com o diagnóstico de linfoma folicular.

## DISCUSSÃO

Analisando os resultados obtidos e comparando-os com os valores encontrados na literatura científica, existem vários aspectos a serem discutidos.

Em primeiro lugar, tal como o esperado, existe na amostra em estudo uma maior incidência de HCL no sexo masculino. Apesar disto, nos vários artigos científicos consultados o rácio homem:mulher é de 4:1 (Robak T, 2015) (Jhatakia SA, 2013) (Allsup DJ, 2002) (Sarvaria A, 2015), enquanto que na população analisada neste trabalho é de 2.375:1.

A idade média de apresentação da HCL obtida foi de 56.48 anos, valor este ligeiramente superior ao valor esperado - 50/52 anos (Robak T, 2015) (Jhatakia SA, 2013) (Allsup DJ, 2002) (Sarvaria A, 2015). Fazendo a análise por faixas etárias, observa-se uma distribuição em crescendo-decrescendo que não apoia o padrão de distribuição descrito por *Dores et al.*. Os autores sugerem uma distribuição bimodal com um pico por volta dos 40 anos e outro por volta dos 80 (Dores GM, 2008).

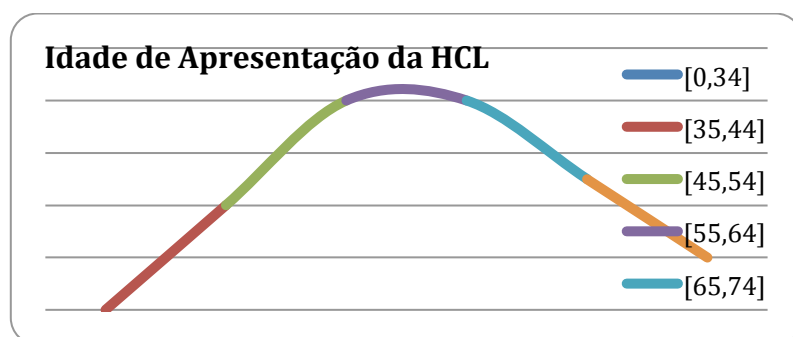


Gráfico 1. Distribuição da idade de apresentação da HCL

No entanto, por forma a aprofundar melhor o padrão de apresentação da doença no que respeita à idade, estudou-se a distribuição da mesma em cada sexo. No sexo masculino, verificou-se uma vez mais uma distribuição em crescendo-decrescendo, com um pico máximo de incidência na faixa etária entre os 55 e os 64 anos. Neste sexo e segundo o artigo já referido, seria de esperar um padrão bimodal com uma maior incidência da apresentação mais precoce (Dores GM, 2008).

Por oposição, no sexo feminino o padrão apresenta-se com dois picos – um primeiro na faixa etária entre os 45 e os 54 anos de idade e um segundo entre os 65 e os 74 anos. Estes dados apoiam parcialmente o estudo de *cohort* já referido, sendo que, de facto, se verifica uma distribuição bimodal da apresentação e uma distribuição tendencialmente igualitária entre os dois picos – 37.5% versus 25%. No entanto, a



faixa etária mais avançada é mais precoce do que a que é referida no estudo (65-74 em vez dos 80 descritos).

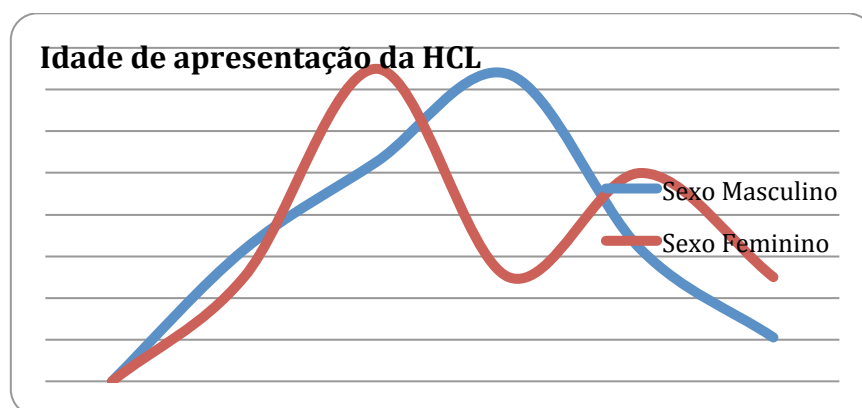


Gráfico 2. Padrão de distribuição da idade de apresentação por sexo e faixas etárias

Estas diferenças são possivelmente explicadas por padrões de referenciação específicos para centros de cuidados terciários, embora a epidemiologia da HCL na população portuguesa não seja conhecida.

Relativamente aos antecedentes pessoais, não foi possível observar um padrão consistente. De facto, os antecedentes descritos verificaram-se bastante díspares e variados. Para além do mais, não existe evidência de exposição a agentes ambientais, como solventes e herbicidas, relatados como possivelmente relacionados com a HCL (Nordstroem M, 1998) (Orsi L, 2009).

O mesmo acontece em relação aos antecedentes familiares. Apesar da prevalência de neoplasias nos familiares de primeiro ou segundo graus parecer significativa (51.81%), não se possuem dados relativos à prevalência na população em geral, pelo que não é possível estabelecer qualquer tipo de conclusão relativamente a este aspecto em particular.

Na caracterização do quadro de apresentação da doença (motivo de consulta), os valores obtidos diferem dos valores descritos na literatura consultada. De facto, nesta amostra a percentagem de doentes assintomáticos à apresentação é bastante mais elevada do que a descrita (51.85% versus 25%) (Sarvaria A, 2015) (Allsup DJ, 2002); para além do mais, alguns estudos referem que 75% das razões de procura do médico serão sintomas inespecíficos como perda de peso e astenia, o que na população estudada corresponde apenas a 3.7% (Allsup DJ, 2002). Tal facto pode depender da realização cada vez mais generalizada de avaliações laboratoriais em doentes

assintomáticos, o que justifica também a elevada prevalência destas na população em estudo.

No que respeita às alterações laboratoriais observadas à apresentação, apenas dois doentes de entre os 27 analisados não apresentaram citopénia. Este facto está de acordo com o esperado, na medida em que a maior parte dos doentes com HCL apresenta durante a evolução da doença algum grau de citopénia (Kraut, 2003). Explorando melhor as contagens celulares, observou-se que 40.74% da população (n=11) apresentaram pancitopénia, em concordância com o descrito por *Kraut* em 2003. Na bibliografia consultada para a elaboração deste trabalho, a percentagem de incidência de leucopénia corresponde à obtida na amostra em estudo, no entanto o número de casos em que há registo de neutropénia grave, abaixo dos 500/ $\mu$ l (11.76%, n=2), é bastante inferior ao esperado (37%) (Allsup DJ, 2002).

*Jones e colaboradores* referem uma incidência de hepatomegália de 40-50%, com raras repercussões ao nível da função hepática e transaminases. Apesar disto, na população estudada observou-se aumento de volume hepático em apenas 3 casos (11.11%), ficando este número aquém do expectável (Jones G, 2011). Para além do mais, os mesmos autores sugerem uma incidência de 60-70% de esplenomegália, ficando o valor obtido na análise estatística deste trabalho mais uma vez abaixo desta percentagem – 40.74% (n=11). Pelo contrário, a frequência de adenopatias na presente série é de 11.11% (n=3), aproximando-se dos 15% descritos por *Allsup e colaboradores* (Allsup DJ, 2002). Dos três casos, 2 seriam adenopatias periféricas e 1 seria adenopatia intraabdominal. A dimensão da presente amostra pode justificar estas diferenças em relação ao descrito em grandes séries na literatura.

No que respeita aos achados ao nível da histologia da medula óssea, a fibrose medular é bastante frequente (Jones G, 2011). Pelo contrário, na população estudada apenas 14.81% (n=4) apresentam alterações fibróticas significativas.

Relativamente ao estudo imunofenotípico da medula óssea ou sangue periférico, 32% dos doentes (n=8) continham populações neoplásicas que expressavam o padrão típico de HCL – CD 11c, CD25 e CD103. Apesar desta percentagem não ser muito alta, apenas 4 doentes realizaram estudo citogenético complementar e nenhum realizou pesquisa genética da mutação BRAF-V600E. Isto pode dever-se ao facto de a citometria de fluxo ser um método simples e que permite estabelecer um diagnóstico com bastante especificidade, mantendo-se como *gold standard*.

No que respeita à terapêutica de 1ª linha terapêutica utilizada na amostra em estudo, esta foi concordante com as recomendações internacionais. 73.08% dos doentes fez cladribina (n=19), em 23.08% foi adoptada uma atitude de vigilância (n=6) e 1 doente foi sujeito a esplenectomia. De facto, a grande eficácia da cladribina como terapêutica na HCL faz com que esta seja amplamente e quase unicamente utilizada. Na população estudada, não existem casos de utilização, como terapêutica de primeira linha, de outros análogos das purinas, IFN ou fármacos mais recentes como inibidores da BRAF.

No que respeita à dose, 47.37% dos doentes (n=9) realizaram um esquema de 5 dias com perfusão de 2 h de uma dose de cladribina entre 0.12-0.14mg/kg/dia e 52.63% (n=10) realizaram um esquema de 7 dias numa dose entre 0.09-0.1mg/kg/dia em perfusão contínua. No primeiro, observou-se RC em 7 dos 9 doentes (77.78%) e RP nos restantes dois doentes; já no segundo esquema utilizado estão relatados 7 casos de RC (70%), 2 de RP (20%) e 1 refractário ao tratamento (10%). Estas duas opções terapêuticas estão ambas descritas na literatura e tidas como igualmente eficazes, com taxas de RC semelhantes (Goodman GR B. E., 2003) (Robak T, 2015), facto corroborado pelas taxas de resposta obtidas na análise da amostra.

As infecções são uma intercorrência significativa na evolução natural da HCL. Apesar disso, menos de 50% dos doentes apresentam registo de infecção. Estão documentados apenas 16 episódios infecciosos nesta série, número que estará provavelmente subestimado. De facto, para além de alguns registos se encontram incompletos, será provável que muitos doentes não se dirijam ao IPO aquando de todas as situações infecciosas agudas mas sim a outro hospital/centro de saúde.

No grupo dos doentes que apresentaram infecções documentadas, a grande maioria dos episódios descritos dizem respeito a neutropénia febril sem foco identificado, correspondendo a 43.75% (n=7), intercorrência identificada na bibliografia como frequentemente associada à evolução do doente com HCL, seja imediatamente após a terapêutica farmacológica seja durante o curso natural da doença (Saven A, 1998). Analisando o *timing* de aparecimento da infecção, verifica-se uma diminuição da incidência de infecções à medida que o tempo vai passando após a terapêutica, atingindo uma incidência mínima após cerca de 6 meses -1 ano. A partir daí, verifica-se novamente uma curva crescente de incidência. Este padrão pode explicar-se inicialmente pela toxicidade da terapêutica, causadora de uma incidência aumentada

no pós tratamento mais imediato, e havendo posteriormente uma nova subida, associada a complicações da própria HCL.

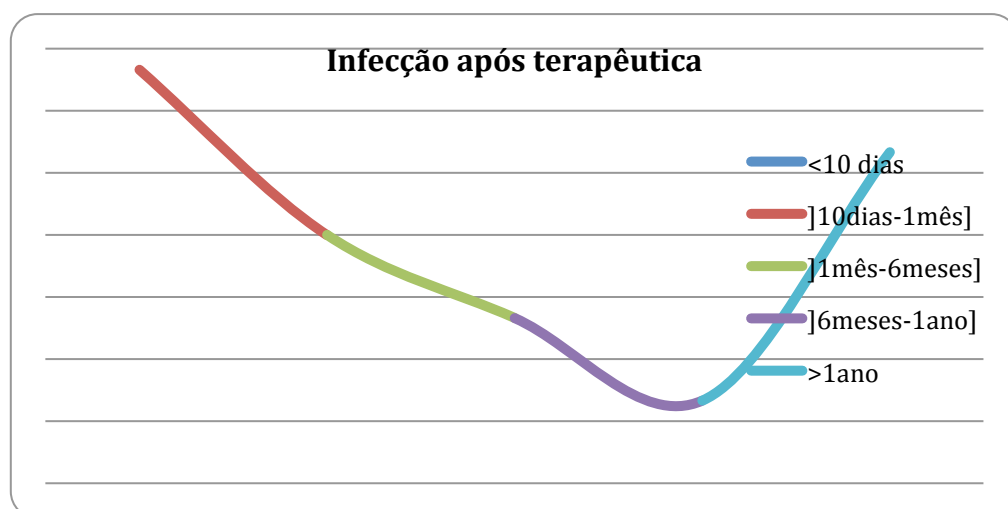


Gráfico 3. Aparecimento de quadro infeccioso relacionado com o tempo após terapêutica

A grande maioria dos doentes não tem agente etiológico isolado, sendo que o único caso descrito corresponde a um *Mycobacterium tuberculosis* acompanhado de *Candida*. Allsup e colaboradores referem o *Mycobacterium* como um agente com grande destaque na HCL (Allsup DJ, 2002).

A sobrevivência livre de progressão após 1ª linha terapêutica, foi em média de 5.28 anos, com uma mediana de 4 anos, um máximo de 19 e um mínimo de 1. Comparando estes dados com os relatados por Saven e colaboradores (52 meses), verifica-se que a média obtida se encontra acima do esperado. No entanto, e tendo em conta que a amostra estudada é pequena, a mediana torna-se mais representativa da população. Esta, com um valor de 4 anos ou 48 meses, é já aproximada ao valor esperado (Saven A, 1998).

Relativamente à recidiva da doença, percebeu-se que os doentes não tratados, mantiveram-se sem progressão da HCL, numa mediana de follow-up de 5 anos. Dentro do grupo de doentes tratados com cladribina, mais de metade dos casos (57.89%) não recidivaram. A terapêutica utilizada na recidiva encontra-se de acordo com o sugerido na literatura, com 50% dos doentes a realizar novo ciclo de cladribina, 2 a realizar terapêutica com outro análogo das purinas – pentostatina, e um que utilizou rituximab em combinação. A sobrevivência livre de progressão associada à 2ª linha terapêutica é inferior à relacionada com a 1ª - média de 1.65 anos, uma mediana de 1.5, com um máximo de 4 e um mínimo de 2 meses. É preciso ter em consideração

que a mediana de follow-up da amostra em estudo é de apenas 5 anos, pelo que esta determinação pode estar incompleta.

*Robak e colaboradores* e *Jones e colaboradores* descreveram que à medida que se avança no número de recidivas a taxa de RC vai diminuindo, apesar de o tempo de duração da remissão ser semelhante (Robak T, 2015) (Jones G, 2011). Na amostra estudada não é possível inferir acerca desta premissa na medida em que nenhum dos doentes analisados apresentou até à data mais do que um episódio de recidiva. No entanto, a taxa de RC no seguimento da terapêutica da recidiva foi de 100%, não se demonstrando inferior aos resultados da 1ª linha terapêutica.

No que respeita à sobrevivência global, a mediana obtida foi de 5 anos, com um máximo de 19 e um mínimo de 1 ano. Tendo em consideração que a mediana de follow-up foi de 5 anos (com um máximo de 19 anos e um mínimo de 1), torna-se possível comparar com os dados apresentados por *Allsup e colaboradores* que descrevem uma sobrevivência aos 5 anos de 95% (Allsup DJ, 2002). Na amostra estudada, a sobrevivência aos 5 anos obtida é, no entanto, inferior, com um valor de 84.62%. Por outro lado, a sobrevivência específica é de 100% (já que a causa de morte dos 4 doentes falecidos não se relacionou com a HLC ou complicações do seu tratamento), valor este semelhante ao mencionado na literatura.

No que respeita ao aumento da probabilidade de desenvolvimento de neoplasias secundárias descrito por alguns autores (Kampmeier P, 1994) (Goodman GR B. E., 2003) (Goodman GR B. C., 2003) (Au WY, 1998) (Robak T, 2015), não foi possível estabelecer qualquer relação estatística na amostra em estudo.

## CONCLUSÃO

A partir da análise dos dados da população com HCL seguida no IPO de Lisboa entre 2003 e 2015 foi possível perceber um pouco melhor como é feito o diagnóstico e acompanhamento desta patologia na prática clínica num centro de cuidados terciário e qual a sua evolução, no que respeita à clínica, resposta à terapêutica, sobrevivência, entre outros.

Apesar disto, existem algumas questões que tornam esta análise difícil. Em primeiro lugar, o número reduzido de doentes nesta série unicêntrica focando uma patologia rara faz com que o volume de dados não permita comparações estatisticamente relevantes com o descrito na literatura. Como noutros estudos retrospectivos, é possível que os registos clínicos se encontrem incompletos, faltando informação importante para a análise de aspectos fundamentais. Finalmente, havendo uma janela temporal de apenas 12 anos, e tendo em consideração que esta é uma patologia com uma sobrevivência longa, a maioria dos doentes encontra-se à altura de realização deste trabalho ainda vivo e em seguimento. Este aspecto torna difícil uma estimativa realista da sobrevivência e da taxa de recidivas e complicações.

No entanto, uma mediana de follow-up de 5 anos poderá já ser suficiente para se inferir alguns dados com relevância científica. Assim, este trabalho poderá ajudar a perceber melhor a patologia especificamente no contexto de um centro de cuidados terciários (ainda que possa não ser representativa da epidemiologia nacional), comparando os dados obtidos com os dados mundialmente divulgados na literatura científica.

Da análise desta população conclui-se que o contexto epidemiológico encontrado é semelhante ao esperado, com uma distribuição por sexo e idade de apresentação características. A apresentação clínica e fenótipo medular observados vão de encontro aos dados clássicos de HCL. Finalmente, a terapêutica posta em prática no IPO segue os esquemas de tratamento recentes e tidos como mais eficazes, obtendo-se valores de resposta e sobrevivência muito favoráveis.

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar à Dr<sup>a</sup> Albertina Nunes pela orientação, apoio e simpatia durante todos os momentos da realização deste trabalho.

À Dr<sup>a</sup> Maria Gomes da Silva por todo o apoio científico, sem o qual este trabalho não seria possível. Agradeço também ter-me aceite e permitido que pudesse desenvolver esta tese no inigualável IPO de Lisboa.

À Madalena pela parceria na análise dos dados, por vezes a horas indevidas.

Aos meus pais e ao Filipe, pela força incondicional e compreensão.

Um agradecimento especial ao Tomás, o meu companheiro de aventuras e da vida, pela paciência e amor durante esta caminhada. Sem ti não faria sentido.

À minha família, colegas e amigos pelo companheirismo e apoio.

Ao Serviço de Hematologia do IPO de Lisboa pela disponibilidade e simpatia.

## BIBLIOGRAFIA

- Vergote V, D. D. (Dezembro de 2014). Rapid and complete hematological response of refractory hairy cell leukemia to the BRAF inhibitor dabrafenib. *Annals of Hematology* , 93 (12), pp. 2087-2089.
- Au WY, K. R. (1998). Second malignancies in patients with hairy cell leukemia in British Columbia: a 20 year experience. *Blood* , 92 (4), pp. 1160-1164.
- Abdel-Wahab O, P. C. (2014). BRAF-mutant hematopoietic malignancies. *Oncotarget* , 5 (18), pp. 7980-7981.
- Allsup DJ, C. J. (2002). The diagnosis and treatment of hairy-cell leukaemia. *Blood Reviews* , 16, pp. 255-262.
- Burotto M, S.-S. M. (2013). Bendamustine and rituximab in relapsed and refractory hairy cell leukemia. *Clinical Cancer Research* , 19 (22), pp. 6313-6321.
- Bahcall O, L. B. (Julho de 2014). Cell of origin of hairy cell leukemia. *Nature Genetics* , 46 (7), p. 665.
- Bethel KJ, S. R. (2003). Pathology of hairy-cell leukaemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology* , 16 (1), pp. 15-31.
- Bilsland D, S. S. (1991). Transient leukaemia cutis in hairy-cell leukemia. *Clinical and Experimental Dermatology* , 16, pp. 207-209.
- Blachly JS, L. G. (Janeiro de 2015). Cotreatment of hairy cell leukemia and melanoma with the BRAF inhibitor dabrafenib. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network* , 13 (1), pp. 9-13.
- Bouroncle BA, W. B. (Julho de 1958). Leukemic reticuloendotheliosis. *Blood* , 13, pp. 609-630.
- Chung SS, K. E. (2014). Hematopoietic Stem Cell Origin of BRAFV600E Mutations in Hairy Cell Leukemia. *Science Translational Medicine* , 6 (238), p. 238.
- Else M, D. C. (2009). Long-term follow-up of 233 patients with hairy cell leukaemia, treated initially with pentostatin or cladribine, at a median of 16 years from diagnosis. *British Journal of Haematology* , 145 (6), pp. 733-740.
- Dietrich S, Z. T. (2015). BRAF inhibitor therapy in HCL. *Best Practice & Research Clinical Haematology* , 28, pp. 246-252.
- Dietrich S, H. J. (2015). Recurrent CDKN1B (p27) mutations in hairy cell leukemia. *Blood* , 126 (8), pp. 1005-1008.



Dores GM, M. R. (Fevereiro de 2008). Hairy Cell Leukemia: a heterogeneous disease? *British Journal of Haematology* , 142, pp. 45-51.

Falini B, T. E. (2004). Simple diagnostic assay for hairy cell leukemia by immunocytochemical detection of annexin A (ANXA 1). *Lancet* , 363, pp. 1869-1870.

Gerrie AS, Z. L. (2012). Fludarabine and rituximab for relapsed or refractory hairy cell leukemia. *Blood* , 119 (9), pp. 1988-1991.

Goodman GR, B. C. (2003). Extended follow-up of patients with hairy cell leukemia after treatment with cladribine. *Journal of Clinical Oncology* , 21 (5), pp. 891-896.

Goodman GR, B. E. (2003). Cladribine in the treatment of hairy-cell leukaemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology* , 16 (1), pp. 101-116.

Jhatakia SA, S. D. (2013). Hairy Cell Leukemia. *Neoplastic Diseases of the Blood* , 10, pp. 121-134.

Jones G, P.-J. N. (2011). Revised guidelines for the diagnosis and management of hairy cell leukaemia and hairy cell leukaemia variant. *British Journal of Haematology* , 156, pp. 186-195.

Kurzrock R, S. S. (1997). Second cancer risk in hairy cell leukemia: analysis of 350 patients. *J Clin Oncology* , 15 (5), pp. 1803-1810.

Kampmeier P, S. R. (1994). Increased incidence of second neoplasms in patients treated with interferon alpha 2b for hairy cell leukemia: a clinicopathologic assessment. *Blood* , 83 (10), pp. 2931-2938.

Kraut, E. (2003). Clinical manifestations and infectious complications of hairy-cell leukaemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology* , 16 (1), pp. 33-44.

Kreitman R J, P. I. (2015). Immunoconjugates in the management of hairy cell leukemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology* , 28, pp. 236-245.

Kreitman RJ, W. W. (2000). Phase I trial of recombinant immunotoxin anti-Tac(Fv)-PE38 (LMB-2) in patients with hematologic malignancies. *Journal of Clinical Oncology* , 18 (8), pp. 1622-1636.

Kreitman RJ, T. M. (2012). Phase I trial of anti-CD22 recombinant immunotoxin moxetumomab pasudotox (CAT-8015 or HA22) in patients with hairy cell leukemia. *Journal of Clinical Oncology* , 30 (15), pp. 1822-1828.

Nordstroem M, H. L.-A. (1998). Occupational exposures, animal exposure and smoking as risk factors for hairy cell leukaemia evaluated in a case-control study. *British Journal of Cancer* , 77 (11), pp. 2048-2052.

- Matutes E, W. A.-B. (2001). The natural history and clinico-pathological features of the variant form of hairy cell leukemia. *Leukemia* , 15, pp. 184-186.
- Matutes E, M. R.-A. (1994). The immunophenotype of hairy cell leukemia (HCL). Proposal for scoring system to distinguish HCL from B-cell disorders with hairy or villous lymphocytes. *Leukemia & Lymphoma* , 14 (1), pp. 57-61.
- Matutes E, M.-T. A. (2015). Hairy cell leukaemia-variant: Disease features and treatment. *Best Practice & Research Clinical Haematology* , 28, pp. 253-263.
- Melaragno MJ, T. K. (1990). Hairy cell leukemia involving an inguinal hernial sac. *Acta Haematologica* , 84, pp. 204-206.
- Morton LM, W. S. (2006). Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood* , 107 (1), pp. 265-276.
- Orsi L, D. L. (2009). Occupational exposure to pesticides and lymphoid neoplasms among men: results of a French case-control study. *Occupational & Environmental Medicine* , 66, pp. 291-298.
- Pettirossi V, S. A. (Fevereiro de 2015). BRAF inhibitors reverse the unique molecular signature and phenotype of hairy cell leukemia and exert potent antileukemic activity. *Blood* , 125 (8), pp. 1207-1216.
- Swerdlow SH, C. E. (2016). The 2016 revision of the World Health Organization (WHO) classification of lymphoid neoplasms. *Blood* , pp. 1-57.
- Saven A, B. C. (1998). Long-term follow-up of patients with hairy cell leukemia after cladribine treatment. *Blood* , 92, pp. 1918-1926.
- Sarvaria A, T. Z. (Outubro de 2015). Current Therapy and New Directions in the Treatment of Hairy Cell Leukemia - A review. *JAMA Oncology* .
- Schreck R, D. W. (1966). Hairy cells in blood in lymphoreticular neoplastic disease and flgellated cells of normal lymph nodes. *Blood* , 27, pp. 199-211.
- Sigal DS, S. R. (2010). Very long-term eradication of minimal residual disease in patients with hairy cell leukemia after a single course of cladribine . *Blood* , 115 (10), pp. 1893-1896.
- Robak T, M. E. (2015). Hairy cell leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* , pp. 1-8.
- Tiacci E, D. C. (2014). Efficacy and safety of the BRAF inhibitor vemurafenib in hairy cell leukemia patients refractory to or relapsed after purine analogues: a phase-2 italian clinical trial. *Blood* , 124 (21), p. 150.

Tiacci E, P. J. (2015). Targeting Mutant BRAF in Relapsed or Refractory Hairy-Cell Leukemia. *New England Journal of Medicine* , pp. 1-15.

Tiacci E, S. G. (5 de Janeiro de 2012). Simple genetic diagnosis oh hairy cell leukemia by sensitive detection of the BRAF-V600E mutation. *Blood* , 119 (1), pp. 192-195.

Tiacci E, T. V. (2011). BRAF mutations in hairy-cell leukemia. *New England Journal of Medicine* , 364 (24), pp. 2305-2315.